ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

β-蜕皮素对家蚕丝腺成长及合成甘氨酸、 丙氨酸有关酶系的调节控制

戴祝英 庄大桓 项美华 (南京师范学院) (中国农业科学院蚕业研究所)

许 廷 森

(中国科学院上海生物化学研究所)

摘要 本文研究了植源性 β -蜕皮素(简称 MH) 对家蚕丝腺成长及合成甘氨酸、丙氨酸有关酶系的影响,探讨了5 龄不同时期添食 β -蜕皮素后丝腺体的成长及后部丝腺和脂肪体中丙氨酸-酮丙二酸、丙氨酸-乙醛酸和乌氨酸转氨酶活力的变化。通过实验观察到: (1)5 龄早期(饷食)添食 β -蜕皮素,龄期延长 8—9小时,茧层量增加,后部丝腺和脂肪体内丙氨酸-酮丙二酸转氨酶、丙氨酸-乙醛酸转氨酶在处理后 6—12小时内,比对照组增高 40—50%。 随之酶活力略下降,至5 龄后期复又升高,明显超过对照组。 脂肪体中乌氨酸转氨酶在 β -蜕皮素处理后 6 小时和 48 小时均低于对照组。 12—24 小时以及 48 小时后直至老熟则明显高于对照组。 (2)5 龄后期 (V—136 小时) 口腔注射 β -蜕皮素,龄期缩短 12—18 小时。 脂肪体和丝腺体中丙氨酸-酮丙二酸转氨酶、丙氨酸-乙醛酸转氨酶活力明显高于对照组(一般增高 20—40%),老熟时迅速下降。 本文对有关保幼激素和 β -蜕皮素对5 龄家蚕两种靶细胞(丝腺细胞和脂肪细胞)的相互配合和制约以完成对蚕整体的调节控制,以及这两种昆虫激素应用于蚕业生产以控制5 龄期的长短和增加蚕丝产量等方面进行了讨论。

昆虫保幼激素类似物和植源性蜕皮激素 (主要成份为 β -蜕皮素) 调节蚕的生长发育和增产蚕丝的作用已为生产实践所证实并有不少报道 (昆虫激素蚕业应用协作组,1979;林浩等,1980)。在家蚕 ($Bombyx\ mori\ L$.) 丝心蛋白中,含量最高的为甘氨酸 ($L_28\%$)及丙氨酸 ($L_32.4\%$),其生物合成已有系统的报道 (许廷森等,1963、1964;邹柏祥等,1979)。并观察到保幼激素类似物对甘氨酸、丙氨酸等有关转氨酶系有明显的调节控制作用 (林浩等,1980)。有关蜕皮激素对家蚕生长发育的影响以及增产蚕丝的实际应用也有所研究 (中国农林科学院蚕桑科技服务组等,1977;周维善、吕鸿声,1980)。为了进一步探讨 β -蜕皮素的作用原理以及对丝蛋白合成的影响,本文观察到 5 龄不同时期添食 (或口腔注射) β -蜕皮素对丝腺体的成长速率和对合成甘氨酸、丙氨酸有关酶系的明显影响,这些酶活力的变化又与丝腺体的成长发育有明显的正相关。这说明保幼激素和 β -蜕皮素在不同时期以不同的方式相互配合、相互制约地对丝腺细胞和脂肪细胞进行调节控制。

材料和方法

一、家蚕品种 $苏_3 \times 苏_4$ 。

本文于 1980 年 12 月收到。

中国农业科学院蚕业研究所赵小萱同志参加部分工作。特此致谢。

- 二、饲育方法 桑叶育或人工饲料育,饲料配方见蔡幼民等,1978。
- 三、β-蜕皮素对蚕的处理 β-蜕皮素系从露水草 (Cyanotis arachnoides) 中提取的纯品,由中国科学院上海有机化学研究所一室提供。样品先溶于少量乙醇中,再加蒸馏水稀释至目的浓度。选取适熟桑叶,用打孔器将桑叶切成直径为 1.3 厘米左右的圆片,用微量进样器于每个圆片上滴以等量的 β-蜕皮素溶液,每片剂量为 4 微克,对照组滴等量的蒸馏水(内含与处理组相同比例的乙醇)。若用人工饲料育则先将饲料压成厚度相同的薄片,再切成大小相等的薄块,滴上等量的 β-蜕皮素溶液。待桑叶叶面干后,选取同一批次、体重相仿的蚕进行个体定量添食,过一定时间 (3 或 6 小时) 拣取同一时间内食完药叶的个体集中饲育,进行试验。
 - 四、丝腺体和脂肪体中转氨酶活力的测定 (见林浩等,1980)。
- 五、丝物质量的调查 逐日解剖 5 龄蚕,小心取出前、中、后部丝腺体,在蒸馏水中洗净后用滤纸吸干,烘干至恒重称量。

结 果

一、β-蜕皮素对5龄蚕发育和丝腺体增长速率的影响

β--帨皮素对蚕生长发育的影响视不同添食时间而异。自 1975 年春期以来,曾多次于苏、×苏、东、东、× 603、东肥×华合等家蚕品种 5 龄的不同时期添食 β--蜕皮素,发现早期(饷食至饷食后 24 小时内)添食,龄期延长并有一定的增丝效果;中期以后添食龄期有不同程度的缩短,产丝量也相应有所减少;见熟后添食,虽然龄期缩短,但产丝量并不明显减少。这一结果与中国农林科学院等单位报道的完全一致。早期添食的影响见表 1。表 1 说明 5 龄饷食添食龄期延长 8—9 小时,茧层量增加 5—8%。其对丝物质形成的影响见表 2。从表 2 可见添食后最初两足天内,处理组丝腺体的绝对重量和增长速率明显地超过对照组,之后有起有落,最后比对照组高 11%。 Shigematsu 等报道蜕皮甾酮(ecdysterone,即 β 蜕皮素,β--ecdysone)对家蚕 5 龄第 3 日的后部丝腺中丝蛋白合成有抑制作用,而对第 5、6、7 日的丝蛋白合成有促进作用。这一结果与我们的试验有相似之处。我们的试验表明:虽于 5 龄第 3、4、7、8 天中略有降低,但仍十分接近。而 5 龄 1、2、5、6 天及熟蚕期均比对照高出 10% 左右,因而虽然龄期延长不算太多,增丝效果却较明显。

表 1 5 龄早期添食 β-蜕皮膏对龄期和茧质的影响									
试验 日期	处 理	饲料	5 龄经过 日:时	全茧量		茧 层 量		茧 层 率	
				克/颗	指数%	克/颗	指数%	%	指数%
79.9	对照	桑叶	6:0	1.900	100.0	0.390	100.0	20.50	100.0
79.9	β-蜕皮素	桑叶	6:8	1.920	101.1	0.420	107.7	21.90	106.8
80.1	对照	人工饲料	6:12	1.872	100.0	0.325	100.0	17.36	100.0
80.1	β-競皮素	人工饲料	6:21	1.964	104.9	0.343	105.5	17.46	100.5

注: 1. 供试蚕品种: 苏₃×苏₄。 2. 添食时间: 5 龄饷食。

3. 供试头数:每组 100 头(♀.♂各半),不包括供解剖用材料蚕。

4. 重复次数: 桑叶饲育组重复3次。

5 龄 日 顺	丝物质于	处理组比对照组增减比例	
5龄日顺	对 照	β-蜕皮素	(%)
起 蚕	0.0020	_	
1 足天	0.0135	0.0145	+7.4
2 足天	0.0248	0.0345	+12.1
3 足天	0.0562	0.0552	-1.8
4 足天	0.1049	0.1035	-1.3
5 足天	0.1775	0.1905	+12.4
6 足天	0.2495	0.2615	+10.5
7 足天	0.3423	0.3383	-1.2
8 足天	0.4521(熟蚕)		
9足天		0.5035(熟蚕)	+11.1

裹 2 5 龄早期添食 β-蜕皮素对丝物质形成的影响

5 龄后期添食 β-蜕皮素,龄期缩短程度视不同添食时间而有明显差异。一般说,提早 2 天添食,龄期缩短 1 天,提早 1 天添食,龄期缩短半天或半天以上。龄期缩短后,丝量也有所减少,但见熟后添食,丝量减少并不明显 (表 3)。

试验日期	处 理	饲料	5 龄 经过 日:时	全茧量		茧 层 量		茧 层 率	
				克/颗	指数%	克/颗	指数%	%	指数%
79.9	对照	桑叶	6:22	2.125	100.0	0.458	100.0	21.55	100.0
79.9	β-蜕皮素	桑叶	6:4	2.100	98.8	0.425	92.8	20.24	93.9
80.1	对照	人工饲料	6:12	1.939	100.0	0.328	100.0	16.92	100.0
80.1	β-蜕皮素	人工饲料	6:0	1.826	94.2	0.317	96.6	17.36	102.6

表 3 5 龄后期添食 β-蜕皮素对龄期和茧质的影响

二、5 龄早期添食 β-蜕皮素对一些转氨酶的作用

甘氨酸和丙氨酸是家蚕丝心蛋白中含量最高的两种氨基酸。甘氨酸的合成可通过丙氨酸-乙醛酸、丙氨酸-酮丙二酸转氨酶的转氨作用而形成。酮丙二酸与有关的氨基酸转氨后,形成氨基丙二酸,氨基丙二酸经脱羧作用亦可形成甘氨酸。5 龄起蚕添食 β -蜕皮素,在 6-24 小时内丝腺体和脂肪体中丙氨酸-酮丙二酸转氨酶和丙氨酸-乙醛酸转氨酶活力均明显上升,比对照组高 40-50%,其后 2-3 天时间内,处理组酶活力低于对照组,至老熟前复又明显高于对照组(见图 1,2,3)。有意义的是,这一变化略早并类似于丝腺体的增长,这表明丝物质增长与酶活力变化有显著的相关性。

5 龄早期添食 β-蜕皮素,脂肪体内鸟氨酸转氨酶活力的变化与上两者不同。 添食 6 小时后处理组明显低于对照组,以后迅速上升,12 小时则明显高于对照组并保持 1 天左右,至 48 小时下降(低于对照组),至 5 龄后期又有明显增高(图 4)。鸟氨酸在鸟氨酸酶催化下可与乙醛酸、α-酮戊二酸或丙酮酸进行转氨生成相应的甘氨酸、谷氨酸和丙氨酸;

注: 1. 供试蚕品种: 苏3×苏4。

^{2.} 供试头数:对照组和处理组每次各解剖 20 头,♀、♂各半。

注: 1. 供试品种: 苏3×苏40

^{2.} 添食时间: 5 龄 136 小时。

^{3.} 供试头数: 每组 50 头。♀、♂各半。

谷氨酸又可通过谷丙转氨酶与丙酮酸转氨形成丙氨酸。鉴于甘氨酸和丙氨酸为组成丝心蛋白的两种主要氨基酸,因此鸟氨酸转氨酶活力的提高也反映了 β -蜕皮素对丝蛋白合成的调控作用。

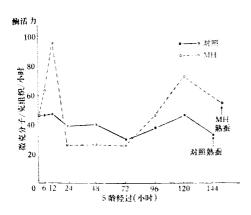


图 1 家蚕 5 龄早期添食 β-蜕皮素对后部丝腺丙 氨酸-酮丙二酸转氨酶活力的影响 剂量: 4 微克/头

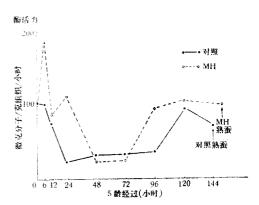


图 2 家蚕 5 龄早期添食 β-蜕皮素对脂肪体丙 氨酸-酮丙二酸转氨酶活力的影响 剂量: 4 微克/头

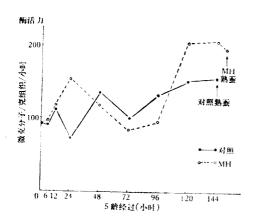


图 3 家蚕 5 龄早期添食 β-蜕皮素对脂肪体丙氨酸-乙醛酸转氨酶活力的影响 剂量: 4 微克/头

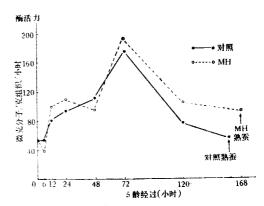
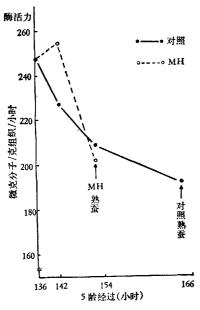


图 4 家蚕 5 龄早期添食 β-蜕皮素对脂肪体鸟氨 酸-δ 转氨酶活力的影响 剂量: 4 微克/头

三、5 龄后期添食 β -蜕皮素对一些转氨酶活力的影响

5 龄后期(见熟前一天)蚕经口腔注射 β-蜕皮素(剂量为 4 微克/头),6 小时后脂肪体或丝腺体内丙氨酸-酮丙二酸、丙氨酸-乙醛酸转氨酶活力均有明显的上升(比对照组增高20—40%),之后迅速下降。对照组尚未老熟,酶活力仍处于缓慢下降的过程中(图 5、6、7)。 这一结果表明,β-蜕皮素可明显地提高以上两种形成甘氨酸的转氨酶的活力,甘氨酸量的增多为丝蛋白的合成提供了原料。 5 龄后期添食 β-蜕皮素虽然缩短了龄期,但由于可诱导形成甘氨酸的转氨酶而有可能在形成丝蛋白的甘氨酸来源方面有所补偿,所以丝物质的减少并不如龄期缩短那么显著。



2期

图 5 家蚕 5 龄后期口腔注射β-蜕皮素对后部丝 腺丙氨酸-酮丙二酸转氨酶活力的影响 剂量: 4 微克/头

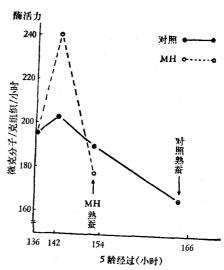


图 6 家蚕 5 龄后期口腔注射 β-蜕皮素对脂肪 体丙氨酸-酮丙二酸转氨酶活力的影响 剂量: 4 微克/头

讨 论

蜕皮激素和保幼激素是昆虫体内重要的生理活性物质。家蚕的生长发育和丝蛋白的合成也受到这两种激素的控制。外源性保幼激素类似物对家蚕丝腺细胞和脂肪细胞中形成甘氨酸和丙氨酸有关的酶系有明显的作用,看来能诱导这些素可的合成(林浩等,1980)。本文报道了 β -蜕皮素可的量地提高丝腺细胞和脂肪细胞中形成甘氨酸和丙氨酸有关酶系。但它们对家蚕的作用不一样,保幼激素类似物需在5龄中期处理,才能对丝蛋白合成有关的酶系有明显的调节控制作用,过早与过迟均无明显效应(许廷森等,1979;林浩等,1980);而 β -蜕皮素在5龄前期和后期均能引起有关转氨酶活力的明显变化。最近报道家蚕及其它鳞翅目昆虫的保幼激素和蜕皮激素在体次内的

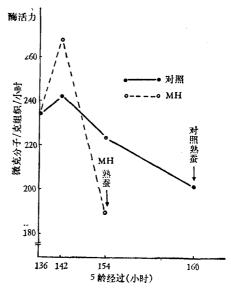


图 7 家蚕 5 龄后期口腔注射 β-蜕皮素对脂肪体丙氨酸-乙醛酸转氨酶活力的影响剂量: 4 微克/头

消长关系同样也阐明了这一问题(Riddiford, 1980)。5 龄前期添食 β-蜕皮素,能延长龄期、增加丝量,丝量的增加又与有关转氨酶活力的提高存在着平行关系,且丝量的变化在时相上略迟于酶活力的变化,这说明可能不仅仅由于延长龄期、增加食桑而增丝,也有可能是

s-蜕皮素诱导了形成甘氨酸和丙氨酸的有关酶系,从而为丝心蛋白的合成提供更多的甘氨酸和丙氨酸来源。5 龄后期添食 β -蜕皮素可缩短龄期提早老熟,产丝量也相应减少。但有意义的是,在添食剂量和使用时间恰当时,虽然龄期缩短,但产茧量可不减或减少不多。这不仅有大量的实验为依据,亦为农村生产实践所证实。 如吴江县平望公社于见熟 5% 左右时以 2 微克/头的剂量给蚕添食,对照组每张蚕种产茧量为 93.9 斤,处理组虽然龄期缩短 8 小时,每张蚕种用桑量节约 60 斤,而每张蚕种产茧量仍达 93.3 斤。关于 β -蜕皮素对丝蛋白合成的调控作用的机理,有待于进一步研究。

参考文献

- 中國农林科学院蚕桑科技服务组等 1977 应用植源性蜕皮激素调节蚕儿生长发育和增产蚕丝的 研究。 昆虫学报 **20**(2): 147--54。
- 许延森、唐梓进 1963a 蚕氨基酸代谢的研究: 1. 比较家蚕和野蚕各种氨基酸和 α-酮戊二酸之转氨作用并自蓖麻蚕丝腺体提取支链氨基酸转氨酶及其一些性质的研究。生物化学与生物物理学报 3(1): 115—23。
- 许廷森、刘静如 1963 b 蚕氨基酸代谢的研究: II. 比较家蚕和野蚕谷氨酰胺酶及天门冬酰胺酶、蓖麻蚕丝腺体中天 门冬酰胺酶之提取及性质之研究。生物化学与生物物理学报 3(1): 125—9。
- 许廷森、王征泰 1964 b **蚕氨基酸**代谢的研究: IV. 幼虫体液及丝腺体中的 α-酮酸。 生物化学与生物物理学报 **4**(4): 481-4。
- 许廷森、戴祝英、庄大桓、项美华、邹柏祥、林浩 1979 保幼激素类似物对家**蚕氨基酸代谢一些酶的影响。** 蚕业科学 5(4): 232-6。
- 邹·伯祥、张汉云、林浩、许廷森 1979 蚕氨基酸代谢的研究: VII. 家蚕和蓖麻蚕体内的氨基酸和形成甘氨酸与丙氨酸有关酶系的比较及酮丙二酸的脱羧作用。昆虫学报 22(4): 378—89。
- 林浩、戴視英、邹柏祥、许廷森 1980 昆虫激素调节控制的研究: 保幼激素类似物对合成甘氨酸和丙氨酸有关酶系的 调节控制。生物化学与生物物理学报 12(4): 321-7。
- 经幼民,王红林,何家禄、李素珍 1978 家蚕人工饲料的研究: 饲料埋化因素对家蚕摄食和生长的影响。 昆虫学报 21(4): 369—84。
- Chou Wei-shan and Lu Hong-sheng 1980 Growth regulation and silk production in Bombyx mori L. from phytogenous ecdysteroids. In: Progress in ecdysone research, p. 281, Hoffmann J. A. (Ed.) Elsevier. North-Holland Biochemical Press. Amsterdam.
- Riddiford, L. M. 1980 Interaction of ecdysteroids and juvenile hormone in the regulation of larval growth and metamorphosis the tobacco hornworm. In: Progress in ecdysone research. p. 409. Hoffmann J. A. (Ed.) Elsevier, North-Holland Biochemical press. Amsterdam.
- Shigematsu H and H Moriyama 1970 Fffeet of codysterone on fibroin synthesis in the posterior division of the silkgland of the silkworm, Bombyx mori. J. Insect Physiol. 16(10): 2015-22.

2期

EFFECT OF β-ECDYSONE ON THE GROWTH OF THE SILKGLAND AND THE REGULATION OF TRANSAMINASE ACTIVITY TO SYNTHESIZE GLYCINE AND ALANINE IN BOMBYX MORI L.

TAI CHU-YING

(Teaching college of Nanking)

ZHUANG DA-YUAN XIANG MEI-HUA

(Institute of Sericulture, Academy of Agricultural Science of China)

HSU TING-SENG

(Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica)

After administration of β -ecdysone at the early stage (during 0—6 hours) to fifth instar larvae of $Bombyx\ mori\ L$. reared on mulberry leaves or semisynthetic diet, the duration of the last instar was not shortened but rather prolonged to 8—9 hours, the weights of silkgland and cocoon shell were increased about 10% and 5—8% respectively. The activities of the transaminases for glycine and alanine formation such as l-alanine-glyoxylate transaminase, l-alanine-ketomalonate transaminase and ornithine- δ transaminase in the cells of posterior division of the silkgland and of the fat body were markedly increased as compared with that of the controls.

While oral injection of β -ecdysone at a later stage (just before larval maturation) shortened the duration of the last instar by 12—18 hours, the activities of l-alanine-glyoxylate transaminase, l-alanine-ketomalonate transaminase in cells of the posterior division of the silkgland and of the fat body also increased rapidly as compared with that of the controls.

The mechanism of action of β -ecdysone and juvenile hormone and the relationship between these two insect hormones in regulating the amino acids metabolism and the biosynthesis of silk fibroin are discussed.